ÉTUDE DE LA POLARITÉ SEXUELLE DES ARMILLAIRES DU GROUPE *MELLEA*

par J.J. GUILLAUMIN, S. BERTHELAY et V. SAVIN*

RÉSUMÉ. – Nous avons étudié la polarité de dix-huit récoltes d'Armillaires se répartissant entre les quatre espèces *Armillaria obscura* (Secrétan) Romagn. (l'«espèce C» *sensu* Korhonen), *A. mellea* (Vahl) Karst («espèce D»), *A. bulbosa* (Barla) Romagn. («espèce E») et *A. pseudobulbosa nomen nudum* («espèce B»).

Les diplontes des Armillaires étant diploïdes et non dicaryotiques, le critère utilisé pour juger de la réussite d'une confrontation est l'apparition d'une morphologie particulière du thalle mixte (aspect croûteux du thalle) et non la présence de boucles.

Toutes les espèces et toutes les récoltes ont manifesté un comportement hétérothalle et tétrapolaire. Les deux loci d'incompatibilité jouent des rôles différents : la présence d'allèles identiques sur l'un des deux loci (appelé locus A) se traduit par l'incompatibilité, quelle que soit la situation sur l'autre locus, désigné par B. La communauté d'allèles sur le locus B (les allèles A étant différents) entraîne dans de nombreux cas une situation de «semi-compatibilité» caractérisée par l'apparition d'un diplonte particulier, instable, à croissance lente, et s'installant plus difficilement que le diplonte typique aux dépens de l'état haploïde.

Des carpophores ont pu être obtenus *in vitro*, de façon régulière pour les espèces *A. obscura* et *A. borealis* («espèce A» *sensu* Korhonen), de façon plus épisodique pour *A. mellea* et *A. bulbosa*. Ces carpophores étaient fertiles, les cultures monospermes qui en ont été tirées ont reproduit le comportement hétérothalle et tétrapolaire manifesté par les myceliums monospermes d'origine naturelle.

Chez *A. obscura* et *A. borealis* très souvent (mais pas dans tous les cas), les carpophores obtenus *in vitro* ne montrent pas de retour au stade dicaryotique dans le sous-hymenium, leur cycle caryologique *in vitro* diffère donc du cycle observé dans la nature.

Chez l'espèce *A. obscura*, on a, à plusieurs reprises, obtenu des carpophores à partir de diplontes synthétiques, ce qui a permis de «boucler» au laboratoire le cycle de cette espèce.

---

* I.N.R.A., Station de Pathologie Végétale, 12, avenue du Brézet, 63039 Clermont-Ferrand Cédex.

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE *(Cryptog., Mycol.)* TOME 4 (1983).

SUMMARY. — The sexual behaviour of single spore cultures of the *Armillaria mellea* group was studied. These cultures were isolated from eighteen basidiocarps belonging to four species : *Armillaria pseudobulbosa nomen nudum*, *A. obscura* (Secrétan) Romagn., *A. mellea* (Vahl) Karst *sensu stricto*, *A. bulbosa* (Barla) Romagn. (also referred to by Korhonen as species «B, C, D, E» respectively).

The polysporous cultures of *Armillaria* are not dikaryotic but diploid. Clamp connections are not found in the vegetative mycelium. Thus the only criterion available to detect the successful mating of two monosporous cultures is the crustaceous aspect of the resultant diploid thallus.

All the fungal specimens concerned in this study were heterothallic and tetrapolar. The two incompatibility loci play different roles : the matings are incompatible if the same genes are present on one of the loci (called «locus A» by the authors), whatever the condition on the other locus «B». If the same genes are present on B (and different genes on A), hemicompatibility can be obtained. Hemicompatibility results in the formation of a special diploid mycelium which is unstable and slow growing.

Fruitbodies could be obtained in pure culture, mostly with species *A. obscura* and *A. borealis* (species «A» according to Korhonen). These fertile fruitbodies gave rise to single spore cultures which have followed in subsequent matings, an heterothallic and tetrapolar pattern (as do the natural haploid strains).

The life cycle of *A. obscura* and *A. borealis in vitro* was sometimes found to be different to that observed in nature. Dikaryons and clamp connections could not be observed in the subhymenium of many of the basidiocarps obtained in pure culture.

Fruitbodies were obtained from «synthetic» diplonts of *A. obscura* (diplonts obtained from compatible matings carried out in the laboratory). Thus it is possible to reproduce *in vitro* a complete cycle of an *Armillaria* species.

INTRODUCTION

La classe des Basidiomycètes se caractérise par un cycle caryologique très particulier dont l'un des traits réside dans l'absence de fusion entre les noyaux haploïdes complémentaires après anastomose entre mycéliums compatibles : les deux noyaux restent associés dans le mycélium, constituant un «dicaryon» dont les deux éléments se divisent de façon conjuguée. Cette division conjuguée se traduit assez souvent par l'apparition sur le thalle d'anses d'anastomoses ou «boucles», critère le plus souvent utilisé par les auteurs pour juger de la réussite d'une confrontation entre deux cultures monospermes.

Une autre caractéristique des Basidiomycètes est la fréquence, à l'intérieur du groupe, d'un comportement dit «hétérothallique tétrapolaire», qui traduit l'existence d'un système d'incompatibilité homogénique porté par deux loci indépendants et susceptibles d'être occupés par des allèles multiples.

Ce schéma, très général, peut subir des variations de détail dont l'exposé a fait l'objet de nombreuses synthèses, la plus récente étant due à BOIDIN (1980).

Toutefois, parmi les Basidiomycètes, le groupe des Armillaires pose un problème particulier; leur cycle présente, en effet, un ensemble de traits que ne peut expliquer le schéma valable pour l'ensemble du groupe :

1) les mycéliums végétatifs indifférenciés, quelle que soit leur origine, sont constitués d'articles régulièrement uninucléés (KUHNER, 1946). Quant aux organes agrégés, les articles qui les composent sont fréquemment plurinucléés, mais ces noyaux multiples n'apparaissent pas associés en dicaryons (CHAHSAVAN, 1974);

2) les produits de la méiose présentent cependant une grande variabilité génétique (RAABE, 1966);

3) la présence de boucles n'a jamais été mise en évidence dans le mycélium végétatif, par contre on a pu en observer au pied des basides et sur les cloisons du sous-hyménium, mais sur certains carpophores seulement; c'est un des critères qu'a utilisés ROMAGNESI (1973) pour procéder au découpage de l'espèce *Armillaria mellea*.

Pour expliquer l'ensemble de ces caractères RAPER (1966) suggérait un cycle asexué et CHAHSAVAN (1974) faisait appel à l'hétérocaryose. Ces explications n'étaient pas convaincantes.

En 1973, HINTIKKA, renonçant à la recherche des boucles, s'attacha exclusivement à l'étude de la morphologie macroscopique des thalles résultant de la confrontation entre souches monobasidiosporiques. Il put montrer que ces confrontations donnaient naissance, dans un quart des cas, à des thalles recouverts d'une croûte mélanisée, ce qui suggérait un comportement hétérothallique et tétrapolaire. Pour expliquer l'absence de boucles et de dicaryons dans les thalles issus de confrontations compatibles, HINTIKKA émit l'hypothèse de la nature diploïde des noyaux des diplontes. Cette hypothèse a été, depuis, confirmée par les travaux de KORHONEN et HINTIKKA (1974), TOMMERUP et BROADBENT (1975), ULLRICH et ANDERSON (1978).

Dans une publication datée de 1978, KORHONEN mettait en évidence :

1) l'existence de séries d'allèles multiples sur les deux loci d'incompatibilité;

2) l'existence de confrontations semi-compatibles («hemicompatible matings») dans certains cas, où un seulement des deux loci d'incompatibilité (le locus A selon KORHONEN) était occupé par un même facteur;

3) l'existence, à l'intérieur de l'ancienne espèce *A. mellea*, de groupe interincompatibles, au nombre de cinq pour le continent européen. Ce démantèlement de l'espèce recoupe en partie celui effectué par ROMAGNESI en 1973 sur la seule base de la morphologie des carpophores. KORHONEN (1978, publ. citée) suggérait l'existence, entre ces espèces, de différences d'ordre écologique et phytopathologique, suggestion confirmée par les travaux effectués récemment en France (GUILLAUMIN et BERTHELAY, 1981) et en Grande-Bretagne (RISHBETH, 1982).

Le travail que nous présentons ici poursuivait trois objectifs :

1) étudier le comportement sexuel de différentes souches, récoltées principalement en France, et dont nous avons montré (1981) qu'elles appartiennent à quatre des espèces définies par KORHONEN : B, C, D et E;

2) étudier l'existence du phénomène de semi-compatibilité à l'intérieur de ces quatre espèces;

3) tenter d'obtenir des carpophores *in vitro*, tant à partir de diplontes naturels qu'à partir de ceux résultant de confrontations effectuées au laboratoire entre haplontes complémentaires, et étudier également le comportement sexuel des monospermes haploïdes issues de ces carpophores.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. – MATÉRIEL FONGIQUE ÉTUDIÉ

Tableau n° 1 – Carpophores d'origine naturelle

	Désignation des souches	Origine géographique
Espèce B sensu KORHONEN	MB 79-16	Col de la Moréno (Puy-de-Dôme)
	MB 80-16	id.
	MB 80-38	id.
	MB 81-23	Forêt de Tronçais (Allier)
Espèce C = *Armillaria obscura*	MC 67-2	Aix-la-Fayette (Livradois-Puy-de-Dôme)
	MC 74-4	Fournols (Livradois-Puy-de-Dôme)
	MC 80-39	Carinthie (Autriche)
	MC 81-11	Beskides (Pologne)
	MC 81-12	Raon-la-Plaine (Vosges)
Espèce D = *Armillaria mellea sensu stricto*	MD 71-3	Le Touquet (Pas-de-Calais)
	MD 78-1	Caumont (Vaucluse)
	MD 79-13	Montesquieu (Pyrénées-Orientales)
	MD 81-1	département de l'Isère
	MD 81-29	Boissède (Haute-Garonne)
Espèce E = *Armillaria bulbosa*	ME 70-1	Les Ancizes (Puy-de-Dôme)
	ME 79-17	St Victor-Montvianneix (Puy-de-Dôme)
	ME 80-15	St Genès-Champanelle (Puy-de-Dôme)
	ME 81-24	La Mazière (Corrèze)
	ME 81-26	Felletin (Creuse)
	ME 81-27	Courmangoux (Ain)

Les récoltes MC 80-39, MD 81-29, ME 81-26 et ME 81-27 ont été faites par le Pr LAMOURE, de l'Université de Lyon, et les mycéliums d'origine monosperme obtenus et fournis par elle.

Tableau n° 2 - Mycéliums diploïdes d'origine naturelle

Espèces	Désignation des isolats	Origine géographique	Hôte	Provenance du mycélium
A	PA 80-20	Finlande	Souche de résineux	Bois et écorce
"	PA 80-21	"	" "	"
B	PB 71-21	St Victor-Montvianneix (Puy-de-Dôme)	Tilleul dépérissant	Bois et écorce
C	PC 79-1	St Julien en Born (Landes)	Jeune Pin maritime mort	Bois
"	PC 79-4	Cestas (Gironde)	Pin maritime dépérissant	Bois et écorce
"	PC 80-4	Mezos (Landes)	Pin maritime	Chair de carpophore
"	PC 81-12	Chambon-sur-Dolore (Puy-de-Dôme)	Epicéa de Sitka dépérissant	Ecorce
D	PD 69-1	Salignac (Dordogne)	Noyer dépérissant	Bois et écorce
"	PD 79-13	Montesquieu (Pyrénées-Orientales)	Pêcher dépérissant	Chair de carpophore
"	PD 80-22	Banyuls-del-Aspres (Pyrénées-Orientales)	Pêcher dépérissant	Bois
"	PD 80-26	Ille-et-Vilaine	Saule mort	Bois
"	PD 81-17	Tronçais (Allier)	Chêne pédonculé dépérissant	Ecorce
E	PE 71-2	Forêt de Saint-Amant (Nord)	Chêne sessile mort	Chair de carpophore



Les différentes souches[1] que nous avons utilisées ont été déterminées par la méthode de KORHONEN (confrontation avec des testeurs haploïdes appartenant aux 5 espèces européennes d'Armillaires), comme décrit dans une publication précédente (GUILLAUMIN et BERTHELAY, 1981).

L'origine de ces souches est indiquée dans les tableaux n° 1, 2 et 3.

Tableau n° 3 – Myceliums diploïdes obtenus au laboratoire par croisement entre deux haplontes compatibles et utilisés pour l'obtention de carpophores en culture pure

Espèce	Désignation des haplontes	Observations
C	MC 74-4-17x19	Haplontes compatibles d'un même carpophore
C	MC 80-39-1x12	Haplontes compatibles d'un même carpophore
C	MC 74-4-19xKC2	Haplontes d'origine géographique éloignée
D	MD 79-13-2x10	Haplontes compatibles d'un même carpophore A1B2 x A2B1
D	MD 79-13-7x8	Même carpophore que le précédent (A1B1 x A2B2)
D	MD 79-13-7xKD1	Haplontes d'origine géographique éloignée

Note sur la nomencla ure des haplontes

– la lettre M indique qu'il s'agit d'une souche d'origine monobasidiosporique
– la seconde lettre indique l'espèce
– les trois chiffres indiquent successivement l'année d'isolement, le numéro d'isolement dans l'année et le numéro de l'haplonte dans la série
– KC2 et KD1 sont des haplontes d'origine finlandaise (KORHONEN) utilisés comme testeurs dans les déterminations spécifiques.

II. – MÉTHODES

A) Obtention des myceliums d'origine monosperme

Nous utilisons une méthode par semis de microgouttes déjà décrite dans d'autres publications (GUILLAUMIN et BERTHELAY, publ. citée).

1. Dans cet article, nous emploierons le terme de «souche» dans le sens qui lui est donné par les spécialistes des champignons supérieurs (1 souche = 1 carpophore ayant donné naissance à une série d'haplontes, par isolement monosperme). Cette acception du mot «souche» est différente de celle des phytopathologistes.

B) Confrontations

Les deux haplontes confrontés sont cultivés en boîte de Petri de 9 cm de diamètre, sur un milieu contenant 2 p. 100 de malt et solidifié par 1,5 p. 100 d'agar. Les implants des deux souches sont constitués par des cubes de milieu gélosé prélevés sur la marge de précultures effectuées sur le même milieu. Ces implants sont placés côte à côte au centre de la boîte.

C) Obtention de carpophores

1) Milieux de culture

Deux milieux de culture ont été utilisés :

a) cultures sur demi-oranges. Cette technique a été empruntée à JACQUES-FELIX (1968); un grand tube de verre (40 x 8 cm), en position verticale, contient une demi-orange placée au milieu du tube, surmontant une colonne d'eau de 20 cm de hauteur et surmontée par une colonne d'air. Le système est stérilisé. La demi-orange est ensemencée sur sa tranche, le champignon colonise d'abord l'orange, puis initie des rhizomorphes qui croissent dans la colonne d'eau.

b) cultures sur baguettes de noisetier. Ce milieu, utilisé habituellement pour les inoculations par l'Armillaire (GUILLAUMIN, 1977), consiste en des fragments de rejets de noisetier, de dimensions standardisées (50 x 12-15 mm) empilés dans des flacons d'un litre et subissant deux stérilisations successives, la première en présence d'eau, la seconde après adjonction de 250 ml de milieu à base de malt et de tomate.

2) Conditions de culture

Après ensemencement, les cultures sont maintenues à l'obscurité et à 22°C, jusqu'à ce que la colonisation des milieux soit suffisamment avancée (rhizomorphes atteignant le fond de la colonne d'eau pour les cultures sur orange, colonisation complète de l'écorce et du cambium pour les cultures sur baguettes). Les récipients de culture sont alors transférés à 14°C et sous un éclairage d'environ 500 lux appliqué selon un rythme de 10 h de jour pour 14 h d'obscurité.

Dans ces conditions, les carpophores apparaissent au bout de délais variant selon les espèces et les isolats, entre 15 jours et 2 mois après transfert en conditions fraîches.

RÉSULTATS

I. - DÉTERMINATION DES POLARITÉS DES DIFFÉRENTES RÉCOLTES

A) Morphologie des confrontations

1) Confrontations compatibles

Les critères de la compatibilité ont déjà été décrits dans notre article de 1981. La morphologie des thalles mixtes relève de l'un des trois types suivants :

a) le type décrit par HINTIKKA (1973) qui est le plus fréquent et se caractérise par l'apparition précoce d'une croûte mélanisée s'étendant sur tout le thalle, ainsi que par la stimulation de la production de rhizomorphes.

b) un second type correspond à l'apparition de mycélium indifférencié ras et hyalin à la périphérie du thalle. Ce mycélium pousse de façon irrégulière et se recouvre tardivement et incomplètement d'une croûte mélanisée.

c) un troisième type, assez rare, se traduit par la croissance d'un mycélium cotonneux, beaucoup plus lente que celle des témoins. Dans ce cas, la rhizomorphogenèse est faible et la croûte mélanisée apparaît très tard (au-delà de 20 jours).

2) Confrontations incompatibles

Deux cas sont à considérer :

a) les thalles poussent côte à côte sans modification de leur morphologie, aucun autre phénomène n'est observé.

b) à la frontière entre les deux thalles, il apparaît dans le milieu de culture, une ligne pigmentée visible surtout sur la face inférieure de la boîte de Pétri. Ce phénomène, qui est général dans les confrontations incompatibles entre espèces d'Armillaires différentes (KORHONEN 1978), se manifeste dans 20 % des cas environ dans les confrontations incompatibles entre haplontes de la même espèce (porteurs d'allèles d'incompatibilité identiques).

3) Confrontations semi-compatibles

Sur les confrontations jeunes (entre 8 et 15 jours), la «semi-compatibilité» se manifeste par la présence d'une «tranchée» séparant les deux thalles et correspondant à une zone où le mycélium présente une faible densité.

Avec l'âge, l'évolution peut être très variable. On a pu distinguer trois types d'évolution :

a) disparition totale de la tranchée : la confrontation semble de type incompatible; dans ce cas, la semi-compatibilité peut passer inaperçue si l'on n'a pas procédé à des observations précoces.

b) apparition du mycélium ras, puis de la croûte mélanisée qui caractérisent l'état diploïde, mais seulement sur certaines parties du thalle mixte (par exemple, selon deux secteurs opposés).

c) enfin, la croûte peut recouvrir presque tout le thalle mixte, c'est alors avec une confrontation compatible qu'il peut y avoir confusion.

Les cas a) et c) restent des situations moins fréquentes que le cas b).

Les réactions compatibles, incompatibles ou semi-compatibles se traduisent différemment selon les souches, une réaction de compatibilité peu marquée dans une souche peut ressembler à une réaction de semi-compatibilité dans une autre souche. On ne peut juger d'une confrontation de façon définitive qu'après avoir observé l'ensemble des croisements et effectué certains recoupements.

B) Comportement des différentes espèces

Les tableaux 4 à 21 illustrent les résultats des confrontations et indiquent, pour chaque série, l'interprétation de ces confrontations en termes de formules alléliques.

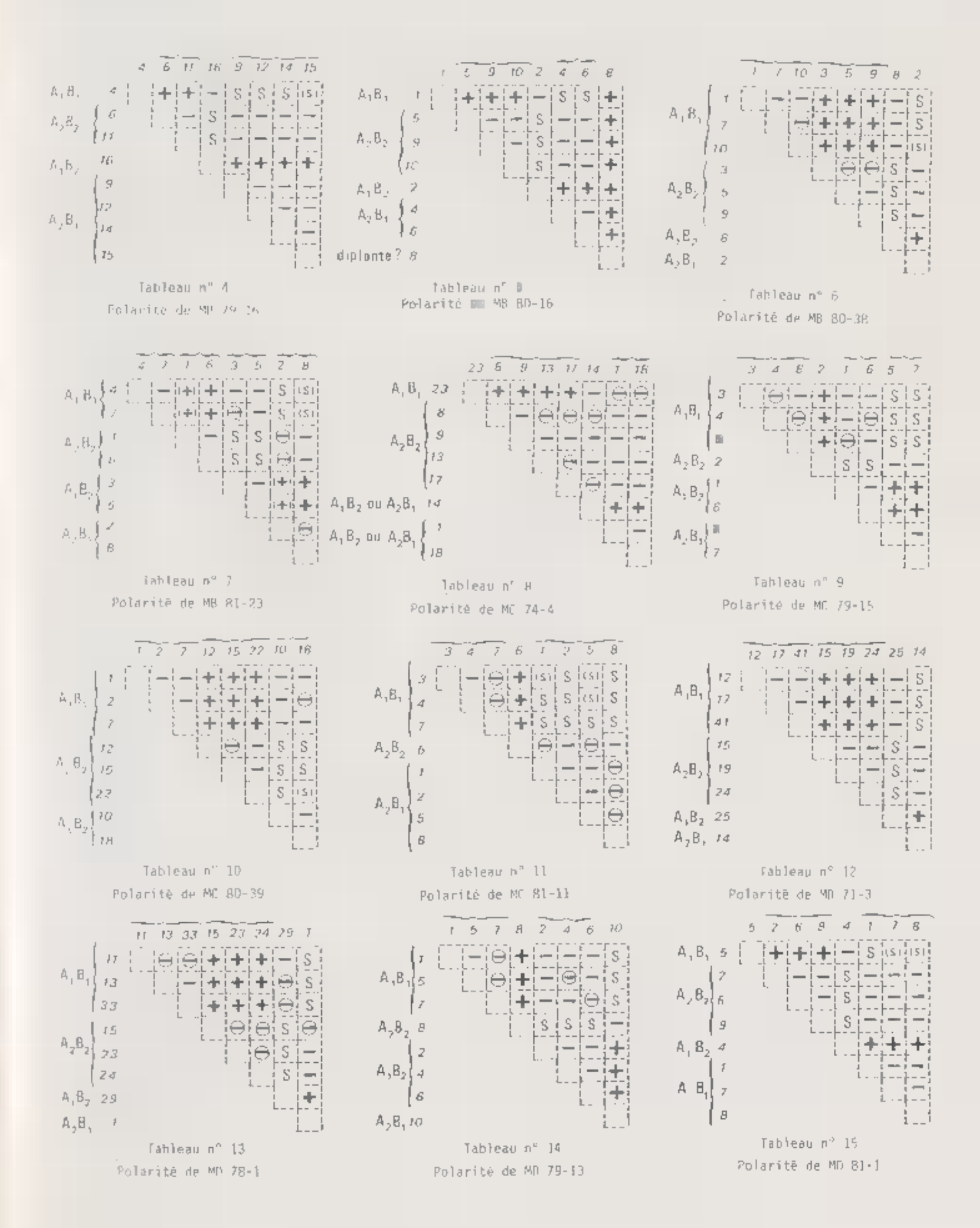


Tableau n° 4 — Polarité de MB 79-26

Tableau n° [redacted] — Polarité [redacted] MB 80-16

Tableau n° 6 — Polarité de MB 80-38

Tableau n° 7 — Polarité de MB 81-23

Tableau n° 8 — Polarité de MC 74-4

Tableau n° 9 — Polarité de MC 79-15

Tableau n° 10 — Polarité de MC 80-39

Tableau n° 11 — Polarité de MC 81-11

Tableau n° 12 — Polarité de MD 71-3

Tableau n° 13 — Polarité de MD 78-1

Tableau n° 14 — Polarité de MD 79-13

Tableau n° 15 — Polarité de MD 81-1

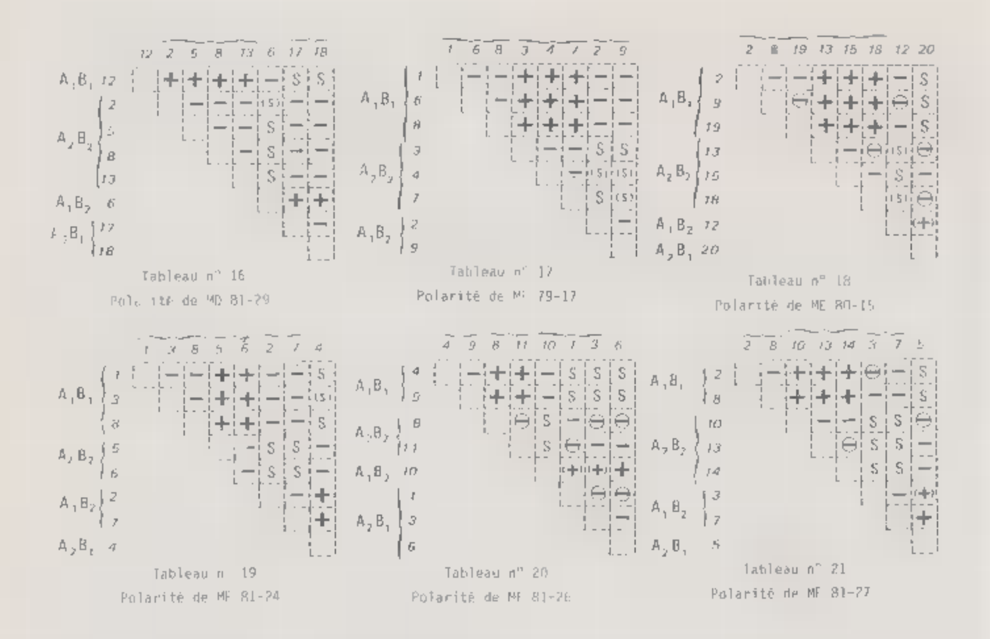


Tableau n° 16 — Polarité de MD 81-29

Tableau n° 17 — Polarité de MF 79-17

Tableau n° 18 — Polarité de MF 80-15

Tableau n° 19 — Polarité de MF 81-24

Tableau n° 20 — Polarité de MF 81-26

Tableau n° 21 — Polarité de MF 81-27

La compatibilité a été notée +, la semi-compatibilité S. Les différentes morphologies des confrontations compatibles et semi-compatibles n'ont pas été indiquées, afin de ne pas compliquer la lecture.

L'incompatibilité a été notée ⊖ quand il y avait présence d'une ligne pigmentée entre les deux thalles, − dans le cas contraire.

Les symboles (+) et (s) correspondent à des cas de compatibilité et de semi-compatibilité que la lecture directe des confrontations n'avait pas mis en évidence et qui n'ont été décelés que par recoupements.

Dans les schémas interprétatifs, à l'intérieur de chaque série, les allèles d'incompatibilité ont été, provisoirement, désignés par A_1, A_2, B_1 et B_2. Les résultats des croisements inter-séries, exposés dans le paragraphe IV, nous ont ensuite permis d'attribuer des formules définitives.

Nous avons considéré la semi-compatibilité comme correspondant à une situation où le facteur B était commun, nous nous en expliquons dans la conclusion de cet article.

1) Espèce B

Cette espèce était représentée par 4 récoltes (tableaux 4 à 7). Dans tous les cas, la tétrapolarité a été mise en évidence et des représentants des quatre pôles ont été trouvés. La semi-compatibilité se manifestait régulièrement.

Les confrontations compatibles et semi-compatibles étaient, la plupart du temps, facilement décelées. Dans les confrontations incompatibles, les cas d'apparition de lignes pigmentées étaient rares (7 sur 51 au total, et absence complète dans 2 séries sur 4).

2) Espèce C (= *Armillaria ostoyae* Romagn.
= *A. obscura* (Pers. ex Secretan) Romagn.)

Espèce représentée par quatre récoltes (tableaux 8 à 11). La situation est un peu plus complexe. L'espèce apparaît tétrapolaire, mais les confrontations entre 8 haplontes n'ont livré des représentants des 4 pôles que dans 2 cas. Pour les récoltes 80-39 et 81-11, on n'a décelé que 3 pôles.

Pour la 80-39, nous avons cherché à trouver des représentants du 4e pôle en confrontant 10 haplontes restants avec des haplontes représentant les 3 pôles mis en évidence. Cet essai fut vain, les 10 haplontes supplémentaires s'étant répartis entre les 3 pôles déjà décelés. Par ailleurs, ces confrontations ont montré que, dans de nombreux cas, le phénomène de semi-compatibilité ne se manifestait pas.

Cette situation apparaît encore plus nettement pour la récolte MC 74-4. Dans ce cas, les 4 pôles ont été trouvés, mais aucune réaction de semi-compatibilité ne s'est manifestée. Les formules $A_1 B_2$ et $A_2 B_1$ ont donc été, provisoirement, attribuées de façon arbitraire.

Dans le but de voir si l'absence de semi-compatibilité s'étendait à tous les haplontes de ce carpophore, nous avons confronté 10 autres haplontes de MC 74-4 aux représentants des 4 pôles décelés. Les 10 haplontes se sont répartis entre les 4 pôles, mais aucune réaction semi-compatible n'a été mise en évidence dans ces croisements. L'absence de semi-compatibilité semble donc bien caractériser la récolte MC 74-4.

3) Espèce D (= *Armillaria mellea sensu stricto*)

Cette espèce était représentée par 5 récoltes (tableaux n° 12 à 16). La tétrapolarité est apparue clairement, des représentants des 4 pôles ont été trouvés dans chaque cas, le phénomène de semi-compatibilité s'est toujours manifesté, et en général assez nettement.

Dans les confrontations incompatibles, on a observé des barrières pigmentées dans 8 cas sur 11 pour la série MD 78-1. Par contre, ces lignes pigmentées ne sont apparues dans aucune des confrontations incompatibles des 4 autres séries.

Pour MD 79-13, on a pu procéder à la détermination de 18 autres haplontes en les confrontant avec des représentants des 4 pôles. Ces 18 haplontes se sont répartis entre les 4 pôles avec des réactions de compatibilité et de semi-compatibilité bien nettes.

4) Espèce E (= *Armillaria bulbosa* (Barla) Romagn.)

Les haplontes de 5 récoltes ont été étudiés (tableaux n° 17 à 21). L'espèce est tétrapolaire, la semi-compatibilité existe dans toutes les séries.

Pour 4 récoltes, la confrontation de 8 haplontes a suffi à la mise en évidence des 4 pôles. Pour le n° 79-17 où on n'avait trouvé que des représentants de 3 pôles, le test de 6 haplontes restant a fait apparaître 3 représentants du 4e pôle.

II. – OBTENTION DE CARPOPHORES *IN VITRO*

Des carpophores ont été obtenus sur 12 diplontes appartenant à 4 des 5 espèces d'Armillaires :

Espèce A : dans 2 cas sur 2 — Espèce D : dans 2 cas sur 8
Espèce C : dans 7 cas sur 7 — Espèce E : dans 1 cas sur 1

L'unique diplonte représentant l'espèce B n'a pas fructifié.

Pour l'espèce C, on a notamment obtenu des carpophores à partir des 3 diplontes «synthétiques» (c'est-à-dire issus de croisements effectués au laboratoire entre haplontes compatibles).

Le tableau 22 indique les caractéristiques de l'hyménium des carpophores obtenus pour les différentes souches.

Tableau 22 – Caractéristiques des carpophores obtenus in vitro

Nom du diplonte	Espèce	Présence de boucles vraies à la base des basides	Nombre de stérigmates par baside	Présence de basidiospores mûres
PA 80-20	A	+ ou – selon les cas	4	–
PA 80-21	A	?	?	–
PC 79-1	C	+ ou – selon les cas	4	+
PC 79-4	C	+ ou – selon les cas	4	+
PC 80-4	C	?	4	+
PC 81-12	C	+	4	+
MC 74-4-17x19	C	–	4	-
MC 80-39-1x12	C	+	?	-
MC 74-4-19 x KC2	C	+	4	+
PD 80-22	D	–	4	+
PD 81-17	D	–	4	+
PE 71-2	E	+	4	+

Des isolements monobasidiosporés ont été effectués sur les carpophores issus des diplontes PC 79-4 (carpophore numéro «VC 81-3»), PC 81-12 («VC 81-5»), PC 79-1 (2 carpophores, «VC 80-41» et VC 81-4» ont été obtenus à 1 an d'intervalle, en 1980 et 1981), PD 80-22 (n° «VD 80-40») et enfin MC 74-4-19 x KC_2 (n° «VC 81-2»).

III. – DÉTERMINATION DES POLARITÉS DES SOUCHES MONOBASIDIOSPORÉES ISSUES DE CARPOPHORES OBTENUS *IN VITRO*

A) Carpophores VC 81-3 et VC 81-5 (espèce C). Les résultats sont donnés par les tableaux n° 23 et 24. La tétrapolarité se manifeste, la semi-compatibilité existe. Le croisement des 8 premiers haplontes a permis de trouver les 4 pôles chez VC 81-3. Pour VC 81-5, il a été nécessaire de confronter d'autres haplontes

du même carpophore avec des représentants des 3 pôles mis en évidence.

B) Carpophores VC 80-41 et VC 81-4 (issus du même diplonte-espèce C).

On a d'abord procédé à des confrontations internes à chacune des 2 séries. (tableaux n° 25 et 26). Les 4 pôles ont été trouvés avec 8 haplontes pour le n° VC 81-4. Pour VC 80-41, il a été nécessaire de faire appel à d'autres haplontes.

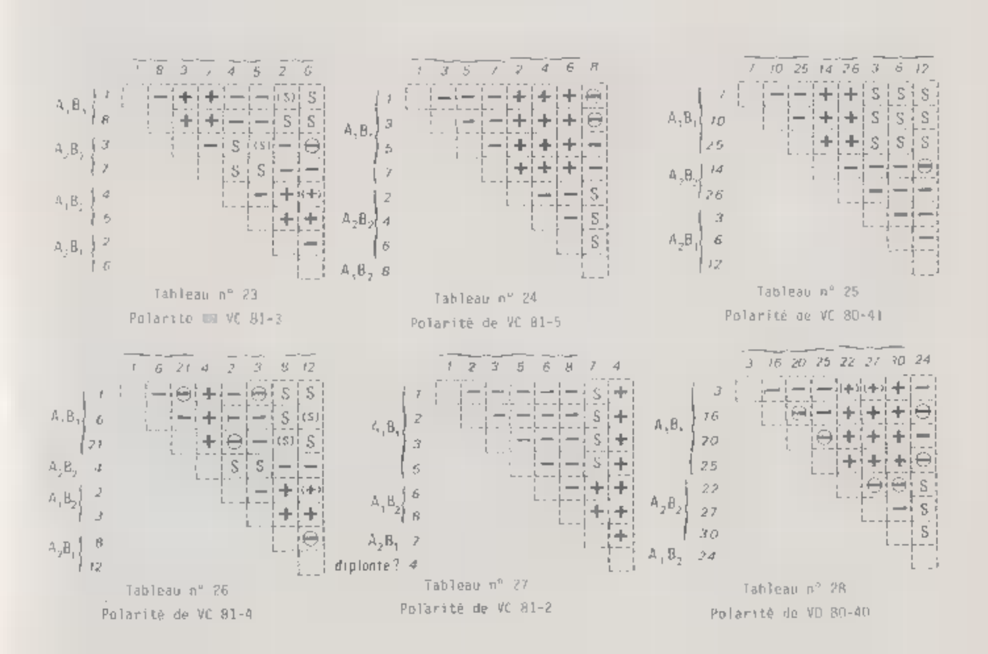
Les 2 séries ont ensuite été croisées entre elles : 4 haplontes représentant chacun 4 pôles ont été confrontés avec 4 représentant les pôles de l'autre série. Ces confrontations ont montré que les 2 carpophores (issus du même diplonte) portaient les mêmes facteurs d'incompatibilité; par exemple VC 80-41(7, 10 et 25) ont les mêmes allèles que VC 81-4-(2 et 3).

C) Carpophore VC 81-2 (espèce C)

Ce carpophore est issu d'un diplonte «artificiel» provenant du croisement des haplontes KC_2 et MC 74-4-19.

Les haplontes de cette série ont tout d'abord été croisés entre eux. Le tableau n° 27 montre que 7 des 8 haplontes se répartissent en 3 pôles. Le monosperme n° 4, compatible avec tous les autres, est vraisemblablement un diplonte, potentiellement porteur de A_1B_2 et A_2B_1 aussi bien que de A_1B_1 et A_2B_2, donc capable de «bulleriser» les 4 pôles.

Ces haplontes ont également été croisés avec les 2 parents KC_2 et MC 74-4-19; ainsi qu'avec 3 représentants des 3 autres pôles de la série MC 74-4.



		1	8	3	7	4	5	2	6
A_1B_1	1		−	+	+	−	−	(S)	S
	8			+	+	−	−	S	S
A_2B_2	3				−	S	(S)	−	⊖
	7					S	S	−	−
A_1B_2	4						−	+	(+)
	5							+	+
A_2B_1	2								−
	6								

Tableau n° 23

Polarite [illegible] VC 81-3

		1	3	5	7	2	4	6	8
A_1B_1	1		−	−	−	+	+	+	⊖
	3			−	−	+	+	+	⊖
	5				−	+	+	+	−
	7					+	+	+	−
A_2B_2	2						−	−	S
	4							−	S
	6								S
A_1B_2	8								

Tableau n° 24

Polarité de VC 81-5

		1	10	25	14	26	3	6	12
A_1B_1	1		−	−	+	+	S	S	S
	10			−	+	+	S	S	S
	25				+	+	S	S	S
A_2B_2	14					−	−	−	⊖
	26						−	−	−
A_2B_1	3							−	−
	6								−
	12								

Tableau n° 25

Polarité de VC 80-41

		1	6	21	4	2	3	8	12
A_1B_1	1		−	⊖	+	−	⊖	S	S
	6			−	+	−	−	S	(S)
	21				+	⊖	−	(S)	S
A_2B_2	4					S	S	−	−
A_1B_2	2						−	+	(+)
	3							+	+
A_2B_1	8								⊖
	12								

Tableau n° 26

Polarité de VC 81-4

		1	2	3	5	6	8	7	4
A_1B_1	1		−	−	−	−	−	S	+
	2			−	−	−	−	S	+
	3				−	−	−	S	+
	5					−	−	S	+
A_1B_2	6						−	+	+
	8							+	+
A_2B_1	7								+
diplonte?	4								

Tableau n° 27

Polarité de VC 81-2

		3	16	20	25	22	27	30	24
A_1B_1	3		−	−	−	(+)	(+)	+	−
	16			⊖	−	+	+	+	⊖
	20				⊖	+	+	+	−
	25					+	+	+	⊖
A_2B_2	22						⊖	⊖	S
	27							−	S
	30								S
A_1B_2	24								

Tableau n° 28

Polarité de VD 80-40

Si l'on attribue les formules A_1B_1, A_2B_2, A_1B_2 et A_2B_1 aux 4 pôles de la souche MC 74-4 et la formule A_3B_3 à KC_2, le tableau n° 29 permet de déterminer les formules des haplontes issus de VC 81-2 :

Tableau n° 29 – VC 81-2 (KC_2xMC 74-4-19)

	1	2	3	4	5	6	7	8
KC_2 (A_3B_3)	-		–	+		–	S	
MC 74-4-19 (A_1B_1)	+	+	+	+	+	S	–	S
MC 74-4-17 (A_2B_2)	+	+	+	+	+	+	+	+
MC 74-4-14 (A_1B_2 ou A_2B_1)	+	+	+	+	+	S	+	S
MC 74-4-18 (A_2B_1 ou A_1B_2)	+	+	+	+	+	+		+

– le mycélium n° 4 se comporte effectivement comme un diplonte

– les monospermes 1, 2, 3 et 5 sont compatibles avec les 4 pôles de MC 74-4 ; elles ont donc la même formule que KC_2 (A_3B_3)

– le monosperme 7 est A_1B_3 (même allèle B que KC_2, donc B_3, et même allèle A que 74-4-19, donc A_1)

– les monospermes 6 et 8 sont A_3B_1 (même allèle A que KC_2, même allèle B que 74-4-19).

Cet essai permet, du même coup, d'attribuer sans ambiguité les formules A_2B_1 à MC 74-4-14 (semi-compatible avec A_3B_1) et donc A_1B_2 à MC 74-4-18, ce que l'absence de semi-compatibilité dans la série 74-4 n'avait pas permis de faire.

D) Carpophore VD 80-40 (espèce D)

On n'a trouvé que 3 pôles. Le croisement de représentants de ces 3 pôles par 10 haplontes restants du même carpophore n'a pas permis de trouver le 4e pôle. La répartition finale des 18 haplontes testés, est assez surprenante ($A_1B_1 = 10$ haplontes, $A_2B_2 = 8$, $A_1B_2 = 1$, $A_2B_1 = 0$).

IV. – CROISEMENTS ENTRE SOUCHES APPARTENANT A LA MEME ESPECE ET GÉOGRAPHIQUEMENT PROCHES

Notre objectif était la mise en évidence d'allèles d'incompatibilité communs à plusieurs souches. Il a été jugé inutile d'effectuer des confrontations entre des souches géographiquement très éloignées. Nous avons confronté seulement :

pour l'espèce D, les souches MD 79-13 et VD 80-40, issues de 2 stations

situées à 2 km environ l'une de l'autre

– pour l'espèce C, les souches MC 74-4 et VC 81-5 (4 km de distance)

– pour l'espèce B, les 3 souches MB 79-16, MB 80-16 et MB 80-38; il y avait environ 1 km entre les carpophores 80-16 et 80-38 d'une part, 79-16 et 80-38 d'autre part, mais seulement 60 à 80 mètres entre les carpophores 79-16 et 80-16.

Toutes les confrontations entre les 4 pôles de :

– MD 79-13 et VD 80-40 – MB 79-16 et MB 80-38
– MC 74-4 et VC 81-5 – MB 80-16 et MB 80-38 ...

. . . se sont avérées compatibles. Ces séries ne possèdent donc pas d'allèles d'incompatibilité communs.

Les résultats des confrontations entre MB 79-16 et MB 80-16 sont données par le tableau n° 30 :

Tableau n° 30

79-16 \ 80-16 (4 pôles)	1	2	n	9
4 pôles: 4	+	+	+	+
11	+	S	+	S
12	+	+	+	+
16	+	S	+	S

Ces deux séries ont donc en commun un allèle B et un seul. L'autre allèle B et les deux allèles A sont différents.

L'ensemble de ces résultats nous permet donc de proposer, pour les différentes souches étudiées, les formules regroupées dans le tableau 31.

CONCLUSIONS ET DISCUSSION

1) Le comportement hétérothallique tétrapolaire est confirmé pour les 4 espèces d'armillaires françaises B, C, D et E.

2) Le phénomène de semi-compatibilité existe chez les 4 espèces, il se manifeste quand il y a communauté de facteurs sur l'un des deux loci (mais non sur l'autre).

Chez les Basidiomycètes où le diplonte est dicaryotique, on considère que la communauté du facteur A limite (ou empêche) l'appariement des noyaux alors que la communauté du facteur B limite leur migration. Chez de nombreuses espèces, il peut se produire des «copulations illégitimes» dans la zone de contact entre deux haplontes ayant un facteur B commun, ces croisements amènent à l'apparition d'un diplonte «B commun» qui peut même quelquefois s'avérer fertile (QUINTANILHA, 1935). Le phénomène de semi-compatibilité chez les

Tableau n° 31 - Formules allèliques de l'ensemble des souches étudiées

Espèce B	MB 79-16	A_1, A_2, B_1, B_2
	MB 80-16	A_3, A_4, B_1, B_3
	MB 80-38	A_5, A_6, B_4, B_5
	MB 81-23	A_7, A_8, B_6, B_7
Espèce C	MC 74-4	A_1, A_2, B_1, B_2
	KC_2	A_3B_3
	VC 81-2	A_1, A_3, B_1, B_3
	MC 79-15	A_4, A_5, B_4, B_5
	MC 80-39	A_6, A_7, B_6, B_7
	MC 81-11	A_8, A_9, B_8, B_9
	VC 81-3	$A_{10}, A_{11}, B_{10}, B_{11}$
	VC 81-5	$A_{12}, A_{13}, B_{12}, B_{13}$
	VC 80-41 et VC 81-4	$A_{14}, A_{15}, B_{14}, B_{15}$
Espèce D	MD 79-13	A_1, A_2, B_1, B_2
	MD 71-3	A_3, A_4, B_3, B_4
	MD 78-1	A_5, A_6, B_5, B_6
	MD 81-1	A_7, A_8, B_7, B_8
	MD 81-29	A_9, A_{10}, B_9, B_{10}
	VD 80-40	$A_{11}, A_{12}, B_{11}, B_{12}$
Espèce E	ME 79-17	A_1, A_2, B_1, B_2
	ME 80-15	A_3, A_4, B_3, B_4
	ME 81-24	A_5, A_6, B_5, B_6
	ME 81-26	A_7, A_8, B_7, B_8
	ME 81-27	A_9, A_{10}, B_9, B_{10}

armillaires nous apparaît, *mutatis mutandis*, tout à fait comparable aux «copulations illégitimes» étudiées par QUINTANILHA. En désaccord avec KORHONEN, nous proposons donc d'appeler B le locus pour lequel la communauté allélique entraîne la semi-compatibilité, l'autre locus étant donc désigné par la lettre A.

Les situations «A et B communs» sont indiscernables morphologiquement. Elles conduisent l'une et l'autre à une incompatibilité absolue. En particulier, l'apparition d'une ligne pigmentée entre les deux thalles se produit avec une égale fréquence dans les deux types de situation.

3) Toutes les souches des espèces B, D et E ont montré le phénomène de semi-compatibilité. Par contre, chez l'espèce C, ce phénomène n'apparaît pas pour le MC 74-4 : les situations «A commun», «B commun», «A et B commun»

y sont ici indiscernables. Dans la même espèce C, la souche MC 80-39 a présenté plusieurs cas où la communauté des facteurs B se traduisait également par l'incompatibilité.

Nous avons montré que les situations semi-compatibles pouvaient évoluer de façon très variable, jusqu'à évoquer, sur des confrontations âgées, des morphologies de type soit compatibles, soit incompatibles, tous les intermédiaires pouvant être rencontrés. La communauté des allèles B se traduit donc par une restriction à la compatibilité dont la force est variable, l'absence de la réaction semi-compatible correspondant à un cas limite où cette «force» est particulièrement élevée.

Remarquons que cette «force» ne dépend pas de la nature des allèles B eux-mêmes : en effet, l'analyse de la série VC 81-2 nous a montré qu'un même facteur B_1 entraînait l'incompatibilité dans les croisements $A_1 B_1$ x $A_2 B_1$ et la semi-compatibilité dans les croisements $A_1 B_1$ x $A_3 B1$. C'est l'ensemble du contexte génétique qui semble déterminer l'expression d'une confrontation «B commun».

4) Les croisements entre souches géographiquement proches ont confirmé la très faible extension spatiale des allèles d'incompatibilité des armillaires, phénomène qui avait déjà été mis en évidence par KORHONEN (1978) et ULLRICH et ANDERSON (1978) : il a fallu descendre à des distances inférieures à 100 mètres pour trouver deux carpophores possédant un allèle d'incompatibilité commun.

5) Nous avons pu obtenir des carpophores *in vitro* pour quatre espèces, et, en ce qui concerne l'espèce C, pour toutes les souches utilisées.

Ces carpophores étaient, dans huit cas sur douze, suffisamment développés pour produire des basidiospores viables. Le caractère tétrasporique des basides et la grande variabilité morphologique des haplontes issus d'un même carpophore indiquent un cycle normal, comportant la méiose.

Dans la nature, l'espèce C montre des boucles à la base des basides, mais non l'espèce D. *In vitro*, des carpophores de D obtenus à partir de l'isolat PD 80-22 étaient effectivement dépourvus de boucles.

En ce qui concerne l'espèce C, les carpophores obtenus en culture pure ont montré, dans certains cas, un cycle semblable au cycle naturel, c'est-à-dire que de vraies boucles étaient présentes à la base des basides et dans le sous-hyménium. Mais sur d'autres fructifications, on n'observait pas de boucles à la base des basides, mais seulement des crochets non anastomosés avec l'article inférieur («fausses boucles»). Dans ce second cas, l'espèce C avait donc parcouru, *in vitro*, un cycle raccourci ne comportant pas le retour au stade dicaryotique dans le sous-hyménium, comportement qui est celui de l'espèce D dans la nature.

Ce phénomène avait déjà été signalé par KORHONEN (1980). Mais, alors que cet auteur observait le raccourcissement du cycle de l'espèce C *in vitro* dans toutes ses cultures, nous avons, quant à nous, obtenu dans certains cas un cycle normal, caractérisé par l'existence de vraies boucles dans le sous-hyménium. L'obtention de l'un ou l'autre type de carpophores est, dans l'état actuel